



⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-81379

⑮ Int.Cl.<sup>4</sup>  
C 07 D 307/58  
// A 61 K 31/34

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和62年(1987)4月14日

6640-4C

ADU

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 抗腫瘍作用物質アキミル酸Aラクトン

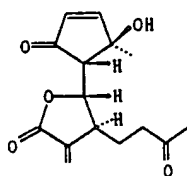
⑰ 特 願 昭60-222371

⑱ 出 願 昭60(1985)10月4日

|         |                           |     |                     |
|---------|---------------------------|-----|---------------------|
| ⑲ 発 明 者 | 石 井                       | 宏   | 西宮市甲子園浦風町9-28-701   |
| ⑲ 発 明 者 | 櫻 井                       | 謙 介 | 奈良県北葛城郡王寺町本町5-19-21 |
| ⑲ 発 明 者 | 東 條                       | 武 彦 | 川西市水明台4-1-8         |
| ⑳ 出 願 人 | 塩野義製薬株式会社 大阪市東区道修町3丁目12番地 |     |                     |
| ㉑ 代 理 人 | 弁理士 潮田 雄一                 |     |                     |

# 明 細 書

1. 発明の名称  
抗腫瘍作用物質アキミル酸Aラクトン
2. 特許請求の範囲  
下記式:



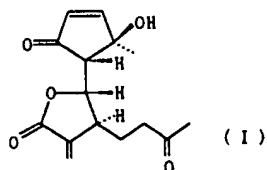
で表わされるアキミル酸Aラクトン。

3. 発明の詳細な説明

イ. 発明の目的

## 産業上の利用分野

本発明は式(I)で示される抗腫瘍作用物質アキミル酸Aラクトンに関する。



## 従来の技術

抗腫瘍性高等植物成分としては、トリブジオライド(tripdiolide)[J. Amer. Chem. Soc., 94, 7194, (1972)], ブルセアンチン(bruceantin)[J. Org. Chem., 38, 178, (1973)]など多数報告されているが、実用化されているものとしてはピンカアルカロイドのビンブラスチン(vinblastine)[The Merck Index 第10版9784], ビンクリスチン(vincristine)[「生物活性天然物質」431(1978)]などが挙げられる。構造類似物質としては、立体異性体のセコタナバルチオライドAおよびB(seco-tanapartholide A and B)[Phytochemistry 21, 2543(1982)]などの例があるが抗腫瘍作用については報告されていない。

## 発明が解決しようとする問題点

従来から、種々の天然物や天然物由来の化合物について抗腫瘍効果がテストされておりアルカロイドや蛋白結合多糖類の中には、抗腫瘍剤として実用化されているものもあるが、天然物ポリオキシド類については、効力、毒性の面で問題点

Best Available Copy

が多く未だ実用化されているものはない。

#### ロ、発明の構成

##### 問題点を解決するための手段

本発明者らは従来から抗腫瘍作用を有する天然物の研究を行なってきた。その結果キク科セイヨウノコギリソウ (*Achillea millefolium* L., Compositae) の植物中に含まれるポリオキシド類に抗腫瘍作用を有する活性物質を見出し、アキミル酸と名付けた。式(I)で示されるアキミル酸Aラクトンはセイヨウノコギリソウより以下のように分離することができる。乾燥したセイヨウノコギリソウの花部を室温下、極性有機溶媒で数日間抽出し、次に、抽出物を水と混和しない低級アルキルアルコールたとえば、*n*-ブタノールまたはペンタノールなどを用いて水と振り分けさらに、酸性物質を得るためにまず塩基性溶液で抽出し、次いで水層を酸性に変えて水と混和しない適当な有機溶媒を用いて抽出する。さらに得られた酸性物質をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離することによりP388に対する活性物質を得

る。極性有機溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、*sec*-ブタノールまたは*tert*-ブタノールなどの低級アルコール、アセトンまたはアセトニトリルなどが挙げられる。塩基性溶液としては、中程度の塩基たとえば、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウムまたは酢酸ナトリウムなどの飽和水溶液が望ましい。水と混和しない有機溶媒としてはジクロロメタン、酢酸エチル、*n*-ブタノールまたはペンタノールなどが挙げられる。活性物質からアキミル酸Aラクトンを得るために、活性物質を適当な溶媒たとえば、クロロホルム、ジクロロメタンまたはメタノールなどに溶解し室温で数日間放置する。溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより展開、溶出すると粗製のラクトン体を得ることができる。粗製ラクトンをさらに精製するためにシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離する。溶出溶媒としてはたとえば、クロロホルム、ジクロロメタン、エーテル、酢酸エチルまたはベンゼンな

る。極性有機溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、*sec*-ブタノールまたは*tert*-ブタノールなどの低級アルコール、アセトンまたはアセトニトリルなどが挙げられる。塩基性溶液としては、中程度の塩基たとえば、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウムまたは酢酸ナトリウムなどの飽和水溶液が望ましい。水と混和しない有機溶媒としてはジクロロメタン、酢酸エチル、*n*-ブタノールまたはペンタノールなどが挙げられる。活性物質からアキミル酸Aラクトンを得るために、活性物質を適当な溶媒たとえば、クロロホルム、ジクロロメタンまたはメタノールなどに溶解し室温で数日間放置する。溶媒を留去し残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより展開、溶出すると粗製のラクトン体を得ることができる。粗製ラクトンをさらに精製するためにシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離する。溶出溶媒としてはたとえば、クロロホルム、ジクロロメタン、エーテル、酢酸エチルまたはベンゼンな

どを溶出する物質の極性に応じて単独または混合で用いるとよい。

以下に実施例および物理恒数を示し本発明の態様を明らかにするが、本発明の範囲がこれらに限定されるものでない。

#### 実施例

##### 実施例1

セイヨウノコギリソウ花部よりの活性物質の抽出

乾燥したセイヨウノコギリソウ(学名:*Achillea millefolium* L.)の花部44gを、メタノール(500ml)に3日間、室温に漬け抽出を行なう。この操作を3度繰返し、減圧下にメタノールを留去、メタノール抽出エキスを、9.6gを褐色の油状物として得る。このメタノール抽出エキスを、*n*-ブタノール(100ml)と水(50ml)で振り分け、*n*-ブタノール層を5%炭酸水素ナトリウム溶液(20ml×6)で抽出する。アルカリ溶液層に希塩酸を加えて溶液をpH3に調整し、酢酸エチル(20ml×5)で抽出する。溶媒層を

水洗乾燥後、減圧下で溶媒を留去し、酸性物質324mgを得る。この酸性物質をメルク社のシリカゲル(0.063~0.200mm)20gを用いての吸着クロマトにかけ、クロロホルム-メタノール-水(85:15:1.5)80ml、続いて同系溶媒(80:20:2)30mlで展開溶出させると、後半部に溶出するフラクションから微黄色油状の、P388に対する活性物質70mgが得られる。

##### 実施例2

##### アキミル酸Aラクトン

活性物質200mgをクロロホルム2mlに溶かし、室温に2日間放置した後溶媒を留去する。残留物200mgをメルク社製のシリカゲル(0.063~0.200mm)15gを用いたクロマトにかけ、塩化メチレン-*n*-ヘキサン(4:1)80mlで展開した後、同系溶媒(9:1)50mlで溶出すると粗製のラクトン体142mgを得る。粗製品を再びシリカゲル(同上)15gを担体とするクロマトにかけ、ベンゼン

Best Available Copy

酢酸エナル(95:5)で展開、溶出させる。  
無色油状物としてアキミル酸Aラクトン107mg  
を得る。 $[\alpha]_D^{25} + 6.1^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>)。IR:  $\nu_{\max}(\text{film})$  3440,  
1765, 1710, 1660, 1593, 1370, 1270, 1240, 1120, 940,  
810 cm<sup>-1</sup>。MS: 278[M<sup>+</sup>]。<sup>13</sup>CNMR:  $\delta$  ppm(CDCl<sub>3</sub>) 208.8,  
202.8, 170.2, 167.0, 137.7, 130.9, 124.9, 80.5,  
78.7, 62.6, 42.1, 39.7, 30.0, 28.6, 25.0。

#### ハ、発明の効果

本発明化合物のP388白血病マウスに対する  
活性試験を行なった。被検動物として5または6  
週令のBDF1マウス(雄)を、1投与ごとに6  
または7匹用いた。試験癌種にはP388白血病  
種を用い、被検動物一匹当たり10<sup>6</sup>個の癌細胞を  
腹腔内投与した。検体は、懸濁液として癌移植後  
1日後にそれぞれの1回あるいは連続投与の場合  
は5日間所定の投与量の投与を行なった。対照群  
には、懸濁液の溶剤のみを腹腔内投与した。試験  
終了後、それぞれの投与量でのILS%(Increased  
life span %, 延命率)を計算した。ILS30  
%以上を有効と判定した。

$$ILS = \frac{S_r - S_c}{S_c} \times 100$$

S<sub>r</sub>: 実験動物の生存日数

S<sub>c</sub>: 対照動物の生存日数

アキミル酸Aラクトン2mg/kg、5mg/kgをそれ  
ぞれ1回投与した場合、ILSはそれぞれ38  
%、35%であり、1mg/kg、4mg/kgをそれぞれ  
連続投与した場合、ILSはそれぞれ48%、  
40%であつた。以上の結果より、本発明アキミ  
ル酸Aラクトンは顕著な抗腫瘍作用を有すること  
が証明される。

特許出願人 塩野義製薬株式会社

代理人 弁理士 潮田 雄

Best Available Copy